

Antigeenispetsiifiline vähi immunoteraapia: kuidas toimib melanoomi ja mitteväikeserakulise kopsuvähi vastane ravivaktsiin?

Rein Sikut – GlaxoSmithKline Eesti OÜ

Vaktsineerimise all mõeldakse tavaliselt seda, et organismis tekitatakse mingi patogeeni antigeenide abil immuunvastus spetsiifiliste antikehade ja T-lümfotsüütidenä, mis annavad hiljem kaitse selle patogeeni vastu. Selliste profülaktiliste vaktsiinide kasutamise ajalugu algas briti arsti Edward Anthony Jenneri tähelepanekutest juba 1796. aastal, kui tal õnnestus vältida inimeste nakatumist rõuge-tesse. See tehnoloogia on viinud rõugeviiruse kadumiseni maailmast ja paljude teiste nakkushaiguste (poliomüeliit, leetrid, lümfotsüütide jt lapsehaigused) väga olulise vähenemiseni. Vaktsiinide abil püütakse abi leida aga ka juba tekkinud infektsioonide raviks või nende progresseerumise kontrolli all hoidmiseks. Nakkushaigustest oleksid siinkohal olulisel kohal HIV-nakkus (sobiv ravivaktsiin oleks väga oluliseks abiks neile HIV-positiivsetele patsientidele, kes antiretroviirusravi ei saa, ei talu või kel on viiruse suhtes tekkinud ravimiresistentsus), aga ka tuberkuloos ja vöötohatis.

Suur valdkond, kus vaktsiinidest abi loodetakse, on ka onkoloogia. Juba on olemas tõhusad profülaktilised vaktsiinid mõnede vähitüüpide vastu, mille on tekitanud mingi patogeeni krooniline infektsioon, olgu sellisteks näiteks papilloomiviiruse (HPV) tekitatud emakakaelavähk, aga ka B-hepatiidi viiruse (HBV) tekitatud maksavähk. Arendusjärgus olevad *Helicobacter pylori* ning C-hepatiidi ja Epstein-Barri viiruse vastased vaktsiinid oleks olulised

maovähi, maksavähi ja lümfoomide ennetamisel. Enamikku teisi vähivorme, mis ei ole teadaolevalt ühegi konkreetse patogeeni tekitatud, aga vaktsiini abil ennetada ei saa. Siiski oleks võimalik sobiva vaktsiini abil anda täiendav panus nendegi haiguste raviskeemi lisaks tavapärastele onkoloogias kasutatavatele ravimeetoditele.

Kasvajaseoselised ja kasvajaspetsiifilised antigeenid

Enamikul juhtudel on vähkkasvaja tekkinud organismi enda geenides toimunud muutuste tagajärjel, kui jätta kõrvale ülaltoodud näited vähi tekitavatest patogeenidest. Seega seisneb peamine küsimus vähivaktsiini koostamisel selles, milliseid antigeene kasutada vaktsiini koostises. Ühelt poolt peab vaktsiin olema immunogeenne ning tekitama sobivat tüüpi immuunvastuse kasvajakude hävitamiseks, teiselt poolt aga ei tohi see tekitada autoimmuunset reaktsiooni normaalsete kudede vastu. Enamik vähirakkudes avalduvaid antigeene ei ole rangelt vähirakuspetsiifilised, need on organismis tavaliselt ka kuskil mujal avalduvad antigeenid. Seetõttu räägitakse pigem kasvajaseoselistest (*tumor-associated*), mitte aga kasvajaspetsiifilistest (*tumor-specific*) antigeenidest.

Vähirakkudes toimub paljude antigeenide tootmine piltlikult öeldes valel ajal, vales hulgas või vales kohas. Esimese näitena võib tuua mitmete embrüonaalsete antigeenide avaldumise täiskasvanud

organismis tekkinud kasvajates: kartsinoembrüonaalne antigeen (CEA) ja alfafetoproteiin on näited hästi läbi uuritud ja diagnostikas kasutusel olevatest kasvajamarke-ritest. Epidermaalse kasvufaktori retseptor (EGFR) on näide anti-geenist, mida osa kasvajakarke (nt rinnavähi puhul) toodab liigeses hulgas ja mille kaudu käivitub raku proliferatsiooni aktiveeriv bioloogilise signalisatsiooni rada. Selle vaigistamiseks on välja töötatud mitmeid ravimid, mis seonduvad selle retseptori rakust väljaulatuva osaga (näiteks monoklonaalne anti-keha trastusumaab) või selle raku-sisese osaga (madalmolekulaarne toimeaine lapatinib). Kolmandaks näiteks on teatud koospetsiifiliste antigeenide ilmumine vähirakkudele, millel ei näi selle koega mitte mingit seost olevat. Siinkohal tuleb kõne alla terve rühm vähi-testise antigeene (*cancer/testis antigens*). See asjaolu, et osa vähirakkudel avalduvatest antigeenidest pole organismis hetkel normaalsetel kudedel avalduvad või nad avalduvad väga selektiivselt ja immuunsüsteemile kättesaamatus kohas (nt hematotestikulaarse barjääri taga), annabki tegelikult hea võimaluse mõningaid neist kasutada terapeutiliste vähivaktsiinide koostises, sest tekkiv immuunvastus toimib ainult kasvajakude vastu.

Vähi-testise antigeenid kui lootustandev sihtmärk vähirakkude ründamiseks

Aastal 1991 avastati melanoomi rakkude uurimisel antigeen, mille

vastu patsientide organismis olid tekkinud spetsiifilised tsütotoksilised T-lümfotsüüdid (1). Isoleeriti vastav geen ja selle nimeks sai MAGE (*melanoma antigen*). Tulemused näitasid, et tegemist ei ole ühe geeniga, vaid geeniperekonnaga, mida algselt tähistati MAGE-1, -2 ja -3. Kui uuriti selle antigeeni olemasolu piiratud valikul normaalsetel kudedel, siis nende avaldumist esialgu ei leitud. Peale melanoomi leiti selle perekonna antigeene veel ka teistest kasvajatest. See oli olulise tähtsusega leid, millega näidati, et vähirakud toodavad teatud antigeene, mis indutseerivad tsütotoksiliste T-lümfotsüütide teket ning mida ei ole normaalsetes kudedes. Sellega oli alanud teekond vähivastase antigeenispetsiifilise immuun-teraapia arendamiseks. Järgnevates uuringutes leiti, et MAGE-antigeenid avalduvad normaalsetes kudedes küll, kuid väga valikuliselt: peamiselt testises, aga ka platsentas (2, 3).

Järgnenud aastate jooksul kirjeldasid maailma eri uurimisrühmad ridamisi mitmeid kasvaja-antigeene, mis normaalsetest kudedest olid esindatud ainult testises, omades seal mingit spermatogeneesi seotud funktsiooni, mida on kokkuvõtlikult kirjeldatud mitmetes ülevaateartiklites (4, 5). Selliseid töid ilmus 1990. aastatel tõepoolest palju, üks sellelaadne töö pärineb ka Tartu Ülikoolist (6). Aastaks 1997 oli selliseid antigeene leitud niivõrd palju, et võeti kasutusele isegi vastav koondnimetus: vähi-testise antigeenid ehk CTAd (*cancer/testis antigens*) (7). Praeguseks on kirjeldatud ca 70 geeniperekonda CTAsid, mille tähtsamad esindajad on esitatud tabelis 1. CTAd võib laias laastus jagada kahte rühma: ühed neist on kodeeritud X-kromosoomi poolt ning teised muude kromosoomide poolt. Üle poole kõikidest CTAdest on kodeeritud X-kromosoomi poolt, kus need geenid moodustavad hästi defineeritud klastreid piki X-kromosoomi. Teistes kromosoomides paiknevad CTAd geenid on tavaliselt ühekordse koopiaga geenid. Ka

nende geenide avaldumise mustris on erinevusi: X-kromosoomi CTAd avalduvad peamiselt spermatogoonides, mitte-X-kromosoomi CTAd aga avalduvad hilisemates spermatogeneesi etappides – meiootiliselt jagunevatel spermatotsüütidel (8). Paljud CT antigeenid on potentsiaalsed märklauad vähivastases immunoteraapias.

Vähi-testise antigeenide roll kasvajates ja normaalses koes

Millist ülesannet täidavad MAGE-antigeenid kasvajakudedel? Kõik see pole lõpuni veel selge, kuid asja mõistmiseks on vaja kõigepealt teada, kus need antigeenid testises avalduvad ja mis võiks olla nende ülesanne.

MAGE-antigeenide tootmine testises toimub spermatogoonides. Need on meiootiliselt paljunevad rakud, mille järglaskonnast osa rakke (spermatotsüüdid) alustavad meiootilist jagunemist. Spermatogoonid toimivad seega kui tüvi-

rakud, mis pideva jagunemise abil peavad alles hoidma enda populatsiooni ning osa tekkivast raku järglaskonnast suunatakse spetsiifilisele diferentseerumisrajale, milleks käsitletaval juhul on raku meiootiline jagunemine ja sellele järgnev haploidsete spermatoosoidide teke. Diferentseerumisega kaasneb tavaliselt rakkude jagunemispotentsiaali vähenemine. Olemasolevad andmed viitavad tõepoolest sellele, et MAGE-antigeenide ülesanne spermatogoonides on takistada rakkude diferentseerumist käivitavate geenide avaldumist, tagamaks seda, et spermatogoonid saaks säilitada enda populatsiooni pideva jagunemise kaudu (9). Kui kasvajakarak kasutab samasugust funktsiooni, s.t säilitab tüvirakule iseloomulikud omadused, siis annab see kasvajakarakule suurema tumorigeenise potentsiaali, sest raku diferentseerumisega kaasneks proliferatsioonivõime vähenemine. Rakukultuuridel tehtud *in vitro* katsed

Tabel 1. Valik vähi-testise (CT) antigeene allika (4) alusel. Üle poole neist on kodeeritud X-kromosoomis paiknevate geenide poolt, mis moodustavad tavaliselt paljudest geenikoopiast koosnevaid klastreid.

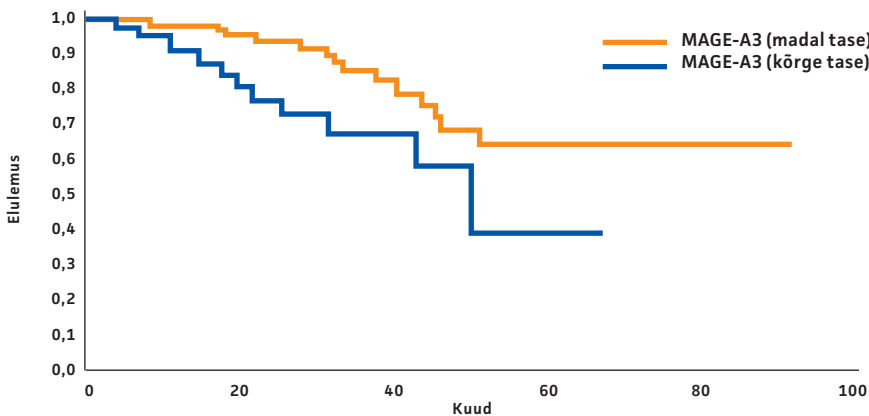
CT antigeen	Geenikoopiaste arv	Paiknemine kromosoomis
X-kromosoomi CT antigeenid		
MAGE-A	12	Xq28
MAGE-B	6	Xp21.3
MAGE-C	3	Xp26-27
GAGE-A	8	Xp11.23
GAGE-B	8	Xp11.23
PAGE	5	Xp11.23
XAGE	5	Xp11.21-11.22
SSX	5	Xp11.2
CTAG	3	Xq28
CAGE	1	Xp22.11
HOM-TES-85	1	Xq23
SAGE	1	Xq26
Mitte-X-kromosoomi CT antigeenid		
BAGE	5	21p11.1
BORIS	1	20q13.2
CT9/3BRDT	1	1p22.1
HAGE	1	6q12-13
OY-TES-1	1	12p12-13
SCP-1	1	1p12-p13
SPO11	1	20q13.2-q13.3

näitasid, et MAGE-antigeenide toimet kiireneb rakkude jagunemine ning tekib ka resistentsus osa ravimite, näiteks paklitakseeli ja doksorubitsiini suhtes (10). Kliinilistest uuringutest on teada, et MAGE-antigeenide suhtes positiivsed kasvaja korreleeruvad halvema prognoosi ja väiksema elulemusega (11, 12, vt

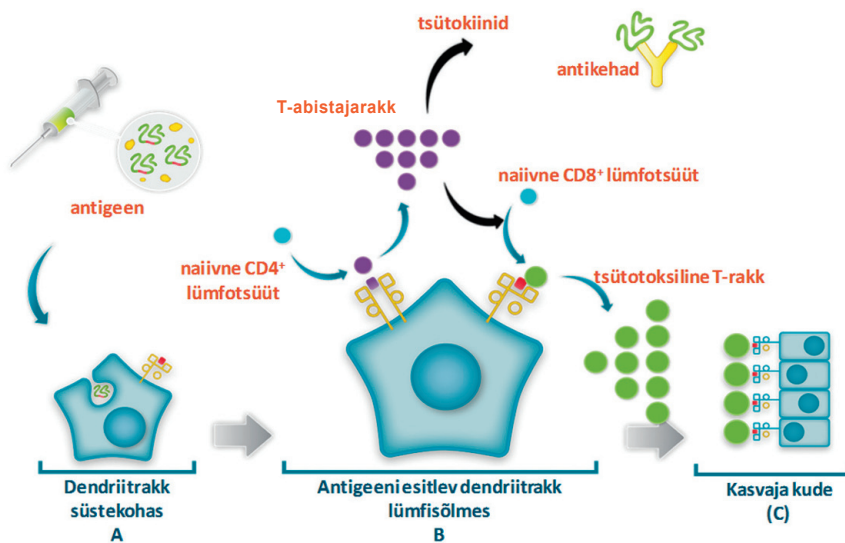
ka joonis 1), kuna MAGE-A3 antigeen stimuleerib tuumori kasvu ja metastaseerumist (13).

MAGE-A3 antigeenil rajaneva vaktsiini koostis ja selle toime põhimõte

Vähivastaste terapeutiliste vaktsiinide mõte on aktiveerida orga-



Joonis 1. Mitteväikeserakulise kopsuvähi patsientide elulemuse seos kasvaja koes esineva MAGE-A3 antigeeni tasemega (11, 12 alusel).



Joonis 2. Vähivaktsiini immuunsüsteemi vähirakkudega võitluseks mobiliseerimise mehhanism.

Vähivaktsiinis oleva antigeeni võtavad endasse süstekohas olevad dendriitrakud (joonise A-osa), mis aktiveeruvad ning rändavad lähimatesse lumfisolmedesse. Seal esitlevad nad antigeenist pärinevaid fragmente (peptiide) kompleksis HLA I ja II klassi antigeenidega, mis tuntakse ära vastavalt CD8⁺ ja CD4⁺ rakkude poolt (joonise B-osa). Selle tulemusel CD4⁺ rakud aktiveeritakse tsütokiini tootvateks T-abistajarakkudeks (*T-helper*) ning CD8⁺ rakud alustavad kiiret proliferatsiooni ning küpsevad tsütotoksiliseks T-lümfotsüütideks. T-abistajarakkude toodetud tsütokiinid aitavad kaasa nii CD8⁺ rakkude proliferatsioonile ja küpsemisele kui ka antikehi tootvate B-lümfotsüütide küpsemisele. Tsütotoksilised T-lümfotsüüdid on võimelised rändama perifeersetesse kudedesse ning seal ära tundma temale spetsiifilisi antigeenseid peptiide (esitletuna HLA I klassi antigeeni poolt). T-raku retseptori seondumisel sihtmärkrakuga vabanevad T-rakus olevatest graanulitest tsütolüütilised valgud perforiin ja gransüüm, mis surmavad sihtraku (joonise C-osa).

nismi immuunsüsteemi vähiantigeenide suhtes, mis aitaksid takistada kasvaja metastaaside levikut. Peamine roll siinjuures on just antigeenispetsiifilistel tsütotoksilistel T-lümfotsüütidel (CTL), mis suudavad tappa sihtmärkrakke (vt joonis 2). Samuti võib antikehadel siinjuures oma roll olla, sest MAGE-A3 antigeen on eksponeeritud raku välismembraanil ja on seetõttu kättesaadav ka antikehadele, mis võivad käivitada antikehast sõltuva tsütotoksilisuse reaktsiooni (ADCC).

Kõnealuse vaktsiini koostises olev antigeen kujutab endast tegelikult rekombinantset liitvalku (*fusion protein*), kus MAGE-A3 antigeenile on liidetud bakteri *Haemophilus influenza* valk D. Bakteri valgu kasutamise eesmärk on suurendada selle antigeeni immunogeensust. Seda antigeenset valku toodetakse bakterite (*E. coli*) kultuuri abil, millesse viiakse vastavat valku kodeeriv rekombinantne geen ja valk eraldatakse bakterimassi muudest komponentidest standardse meetodika alusel.

Lisaks antigeenile on vaktsiini koostises adjuvantisüsteem koodnimetusega AS15, mis sisaldab endas nelja komponenti: liposoom, saponiin QS21, monofosforüül-lipiidi A (MPL) ning oligonukleotiid CpG7909 (vt joonis 3A–3C). Liposoomid kujutavad endast fosfolipiididest moodustunud tilgakesi, mis võivad oma membraani siduda valgulisi antigeene. QS21 on saponiini derivaat (triterpeenglükosiid), mis on Tšiilist pärineva seebipuu (*Quillaja saponaria*) koorest eraldatud preparaat. Sel ainel on immunostimuleerivad omadused, sest ta suurendab antigeeni presenteerivate rakkude (makrofaagid, dendriitrakud) võimekust esitleda antigeeni, eriti just tsütotoksiliste T-lümfotsüütide aktiveerimisel. Seda ühendit kasutatakse näiteks ka arendusjärgus olevate malaaria, tuberkuloosi ja HIV-nakkuse vaktsiinides.

MPL on bakterist *Salmonella minnesota* eraldatud lipopolüsahhariidi derivaat, mis on ligandiks

Tolli-sarnasele retseptorile TLR4, kuid mille reaktogeensus on oluliselt vähendatud võrreldes naturaalse lipopolüsahhariidiga. Seda adjuvantset ühendit kasutatakse osas litsentseeritud vaktsiinides (näiteks emakakaelavähivastases HPV16/18 vaktsiinis).

Oligonukleotiid CpG7909 kujutab endast DNA fragmenti, kus on

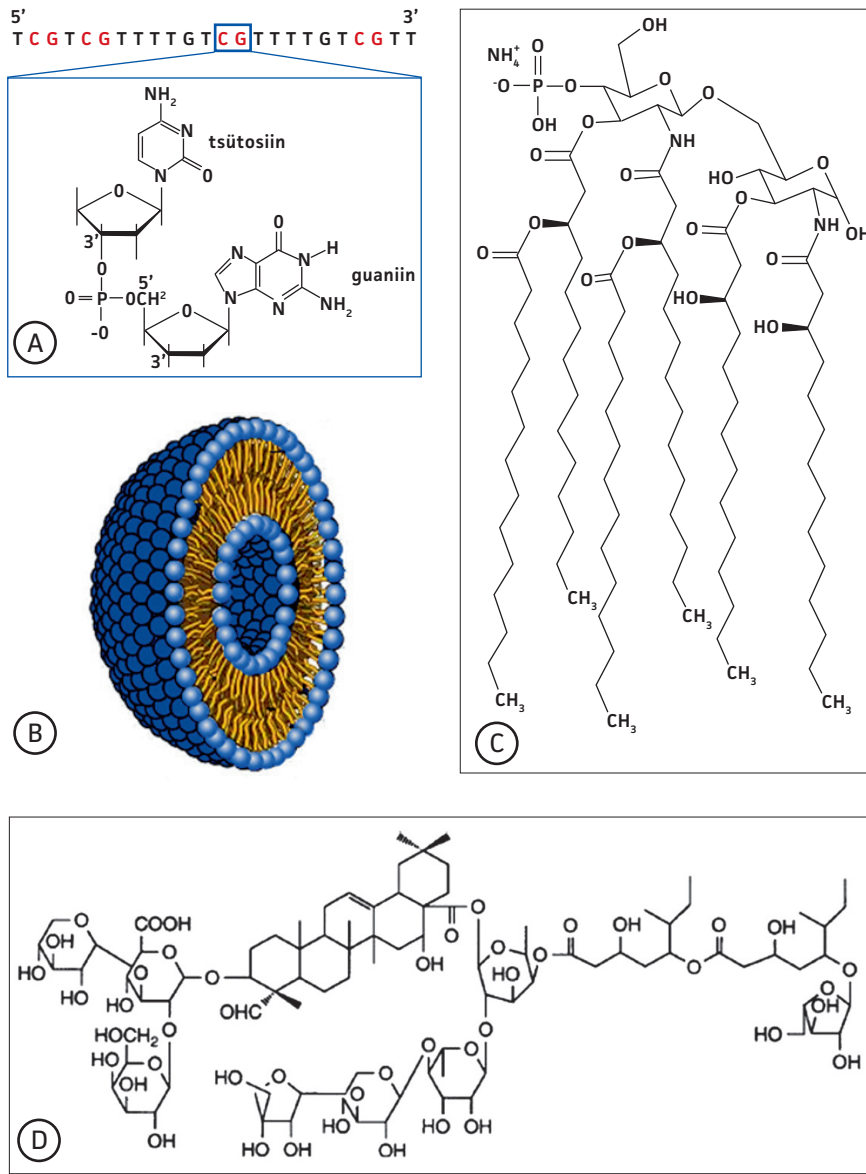
rohkelt kõrvuti asetsevad tsütosiini (C) ja guaniini (G) jääke, mis on ühendatud fosfodietersidemega (P). CpG-rikkaid ning ilma metüülrühmadeta DNA piirkondi esineb palju bakterite DNA koostises, kuid mitte kõrgemate organismide DNAs. Selline DNA aktiveerib kõrgemate organismide rakkudes TLR9 retseptori, mis käivitab I tüüpi interferoo-

nide tootmise ja see omakorda on oluline tsütotoksiliste T-rakkude aktiveerimisel. TLR retseptorid on immuunsüsteemi kaasasündinud osa käivitavad retseptorid, mille roll adaptiivse immuunvastuse kujunemisel on selgunud viimaste kümnendite jooksul. Nende retseptorite funktsiooni mõistmine oli niivõrd olulise tähtsusega immunoloogia ja vaktsinoloogia arengus, et nende avastajatele B. Beutlerile ja J. Hoffmannile anti 2011. aastal Nobeli meditsiinipreemia.

Käimasolevad kliinilised uuringud MAGRIT ja DERMA

MAGE-A3 antigeenil põhineva vähivaktsiini kolmanda faasi juhuslikustatud platseeboga kontrollitud topeltpimedasse üleilmsesse uuringusse on hõlmatud 2270 mitteväikeserakulise kopsuvähiga patsienti 33 riigi 400 uurimiskeskusest. Selle uuringu koodnimetus on MAGRIT. Eestis osaleb selles kaks uurimiskeskust ja uurimise all on 57 patsienti. Patsientide aktiivne kaasamine on lõppenud, kuid jälgimisperiood kestab kuni aastani 2022. Melanoomipatsientidega käimasolev uuring DERMA hõlmab üleilmselt 1300 patsienti 23 riigi 200 uurimiskeskusest. Eestis osaleb uuringus kaks keskust ja 10 patsienti. Selle uuringu jälgimisperiood on kuni aastani 2016.

Uuringutesse on võetud ainult need patsiendid, kelle kasvajakoes avaldub MAGE-A3 antigeen, sest arusaadavalt saavad sellest vaktsiinist võimalikku kasu ainult nemad. Seetõttu on vajalik eelnev kasvaja-proovide uurimine selle antigeeni avaldumise suhtes. Melanoomiga patsientidest on MAGE-A3 antigeen olemas umbes 60%-l, mitteväikeserakulise kopsuvähi puhul aga 33%-l patsientidest. Uuringus osalevad patsiendid saavad uuringuvaktsiini lisaks kõikidele muudele ettenähtud ravimeetoditele. Uuringu esmane tulemusnäitaja on haigusvaba elulemus, teised tulemusnäitajad on üldine elulemus, vaktsiini immunogeensus, kõrvalmõjud. MAGE-A3



Joonis 3. Vähivaktsiini adjuvandi AS15 neli komponenti (3A–3D). Immunostimulaatorne oligonukleotiid CpG7909 kujutab endast tsütosiini ja guaniini rikast mittemetüleeritud DNA osa, mis on iseloomulik bakteritele ning mida kõrgemates organismides tunneb ära Tolli-sarnane retseptor TLR9 (3A). Fosfolipiidid moodustavad vees väikesi kerakesi ehk liposoomi (läbimõõduga ~ 100 nm), mille membraani võivad seostuda valgulised antigeenid (3B). Monofosforüülipiidi A on bakterist *Salmonella minnesota* eraldatud lipopolüsahhariidi derivaat, mis aktiveerib rakkudes TLR4 retseptori (3C). QS21 on immunostimulaatorsete omadustega saponiini derivaat, mis on eraldatud seebipuu (*Quillaja saponaria*) koorest (3D).

antigeenil põhinev ravivaktsiin melanoomi raviks plaanitakse kasutusele võtta mõne aasta jooksul, mitteväikeserakulise kopsuvähiga patsientide raviks veidi hiljem.

AUTORI VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autor töötab teadusnõunikuna GlaxoSmithKline Eesti OÜs, mis on vaktsiinide väljatöötamise ja turustamisega tegelev ettevõtte.

KIRJANDUS

1. van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T-lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991;254:1643–7.
2. Zendman AJ, Ruiter DJ, van Muijen GN. Cancer/testis-associated genes: identification, expression profile, and putative function. *J Cell Physiol* 2003;194:272–88.
3. De Plaen E, Arden K, Traversari C, et al. Structure, chromosomal location, and expression of 12 genes of the MAGE family. *Immunogenetics* 1994;40:360–9.
4. Fratta E, Coral S, Cove A, et al. The biology of cancer testis antigens: putative function, regulation and therapeutic potential. *Molecular Oncology* 2011;5:164–82.
5. Cheng Y-H, Wong EWP and Cheng CY. Cancer/testis (CT) antigens, carcinogenesis and spermatogenesis. *Spermatogenesis* 2011;1:209–20.
6. Sikut R, Veromann S, Piirsoo A, Mikelsaar AV, Saar H, Reintam MA. Ovarian carcinomas express a sperm acrosomal antigen, defined by monoclonal antibody 9H8. *Tumor Biology* 1992;13:217–25.
7. Chen YT, Scanlan MJ, Sahin U, et al. A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1914–8.
8. Simpson AJG, Caballero OL, Jungbluth A, Chen YT, Old LJ. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nature Reviews Cancer* 2005;5:615–25.
9. Laduron S, Deplus R, Zhou S, et al. MAGE-A1 interacts with adaptor SKIP and the deacetylase HDAC1 to repress transcription. *Nucleic Acids Res* 2004;32:4340–50.
10. Duan Z, Lamendola DE, Yusuf RZ, Naeem R, Penson RT, Seiden MV. Overexpression of MAGE/GAGE genes in paclitaxel/doxorubicin-resistant human cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2003;9:2778–85.
11. Gure AO, Chua R, Williamson B, et al. Cancer-testis genes are coordinately expressed and are markers of poor outcome in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:8055–62.
12. Bolli M, Kocher T, Adamina M, et al. Tissue microarray evaluation of melanoma antigen E (MAGE) tumor-associated antigen expression: potential indications for specific immunotherapy and prognostic relevance in squamous cell lung carcinoma. *Ann Surg* 2002;236:785–93.
13. Liu W, Cheng S, Asa SL, Ezzat S. The melanoma-associated antigen A3 mediates fibronectin-controlled cancer progression and metastasis. *Cancer Res* 2008;68:8104–12.

rein.r.sikut@gsk.com

Tööstress ei suurenda vähi kujunemise riski

Vähi kujunemisel arvatakse 90%-l juhtudest olevat osa elukondlikel teguritel: eluviis, ultraviolettkiirgus, viirused, suitsetamine.

Samas vabanevad psühhosotsiaalse stressi korral hüpofüüsis ja vaheajust nn stressihormoonid, mis soodustavad või vallandavad kroonilist põletikku. Lisaks suitsetavad stressis inimesed sageli ja tarbivad enam alkoholi, neil on kalduvus ülekaa-

lulisusele. Kõik eespool toodu võiks samuti soodustada vähi arengut. Samas ei ole kirjanduses kindlaid andmeid stressi ja vähi põhjuslike seoste kohta.

Briti meditsiiniajakirjas avaldati uuring, kus analüüsiti aastatel 1985–2008 tehtud 12 uuringu andmeid tööstressi ja vähi arenemise seoste kohta Euroopa keskustes. Kokku oli 116 000 inimest tunnistanud, et neil on suurest tööpingest (kõrged nõudmised, rangelt reguleeritud töörežiim) põhjustatud stress. Kokku

oli neil inimestel registreeritud 5700 vähijuhtu (5%). Sagedasemate vähipaikmete – kolorektaal-, kopsu-, rinna- ja eesnäärmevähi – esinemissagedus sel uuritute rühmal oli alla 1%.

Uuringust järeldub, et pingeline töö ei ole otsene ega oluline vähi riskitegur.

ALLIKAS

Heikkilä K, Nyberg ST, Theorell T, et al. Work stress and risk of cancer – metaanalysis 5700 incident cancer events in 116 000 European men and women. *BMJ* 2013;346:f165.

LÜHIDALT